

# **PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM**

Biológiai Doktori Iskola  
Összehasonlító Neurobiológia Program

## **Különböző neuroprotektív anyagok hatásainak vizsgálata retinadegenerációs modelleken patkányban**

***PhD értekezés tézisei***

**Atlasz Tamás**

Témavezető:

***Dr. Gábor Róbert***  
egyetemi tanár

**Dr. Reglődi Dóra**  
egyetemi docens

**PÉCS, 2008.**

## **BEvezetés**

### ***A retina anatómiája***

A retina több rétegből álló, fényérzékelésre specializálódott szövet. Több millió sejtet tartalmaz, amelyek együttesen a fénysugarak felfogására és azok kémiai energiává történő átalakítására képesek.

Az emlős retina 10 rétegből épül fel, melyek kívülről befelé haladva a következők:

1. Pigmenthám rétege (PE; az itt található sejtek, a retinális idegsejtek támasztására szolgálnak).
2. Fotoreceptor sejtek rétege (PL; a fény- és színérzékeny sejtek: csapok és pálcikák).
3. Külső határmembrán (OLM; a réteg a fotoreceptorok sejttesteit választja el a belső szegmenseiktől). A Müller-sejtek végtalpaiból álló nem folytonos réteg.
4. Külső sejtes réteg (ONL; a csapok és pálcikák sejttesteit tartalmazza).
5. Külső rostos réteg (OPL; az első réteg, ahol a fotoreceptorok, bipoláris sejtek, valamint horizontális sejtek nyúlványai szinaptizálnak).
6. Belső sejtes réteg (INL; a horizontális-, a bipoláris-, az amakrin- valamint a Müller-sejtek sejttesteit tartalmazza).
7. Belső rostos réteg (IPL; a bipoláris sejtek axonjai, az amakrin sejtek nyúlványai, illetve a dúcsejtek dendritjei itt kapcsolódnak).
8. Ganglionsejtek rétege (GCL; a ganglionsejtek sejttesteit és az ún. „displaced” amakrin sejtek alkotják).
9. Optikus rostok rétege (NFL; a ganglionsejtek axonjaiból összeszedődő rostköteg, amely az ingerületet a felsőbb központok felé továbbítja).
10. Belső határmembrán (ILM; a retinát az üvegtesttől a Müller-sejtek végtalpaiból létrejövő határhártya választja el).

A retina szerkezeti felépítése biztosítja a szemben a látás neuronális hátterét, első lépését képezve a szín, illetve a kontraszt érzet kialakulásának.

### ***Retinadegenerációs modellek***

A szakirodalomban számos retinadegenerációs modell található, amelyeket két nagy csoportra oszthatunk. Az egyik csoportba tartoznak a genetikai háttérrel rendelkezők, míg a

másikba a metabolikus, vagy traumatikus eseményeken alapuló. Az utóbbi csoportba sorolhatók többek között a glaukóma, az ischaemia okozta neuronális károsodások, a diabeteses retinopathia, az autoimmun betegségek, toxikus ágensek hatására kialakuló degenerációs jelenségek, valamint az erős fény okozta elváltozások.

A glutamát receptorok patológiás aktivációja kulcsszerepet játszik számos idegrendszeri degenerációban. Ide sorolhatóak a glutamát receptorok túlműködésén alapuló retinális eredetű elváltozások is. Az extracelluláris glutamát koncentráció megnövelésével jól modellezhetők különböző krónikus szembetegségek. Ilyen hatás érhető el többek között a Na-(monosodium)-L-glutamát (MSG) szubkután (s.c.) injekció formájában történő adásával, mely meghatározott feltételek mellett alkalmazva az egész belső retina pusztulását okozza.

A kétoldali arteria carotis communis (bilateral common carotid artery occlusion, BCCAO) permanens lekötése a véráramlás drasztikus csökkenésével biokémiai és viselkedésbeli változásokat indukál. Hisztológiai és immuncitokémiai vizsgálatokkal kimutatható, hogy a hosszú ideig fennálló BCCAO, a mielinhüvelyek szétesését, asztrogliózisos elfajulást és mikroglia aktivációt okoz. Ismert, hogy a BCCAO a retinában olyan karakterisztikus patológiás elváltozást indukál, amely megfelel a humán arteria carotis elzáródásával kialakuló retinopathiának. Az elektroretinográfiás és a morfológiai tanulmányok igazolják, hogy a BCCAO a retina sérüléséhez vezet.

A sejtpusztuláshoz vezető retinális elváltozások rendkívül összetettek, ezért a patológiás folyamatok megállítására, ill. kivédésére számos farmakológiai vegyület áll rendelkezésünkre. Mindezek a patológiás folyamatok magukban foglalják a szabad gyökök számának megnövekedését, illetve a  $\text{Ca}^{2+}$ -szint csökkentését, a mitokondriumok pusztulásának kivédését, az apoptotikus kaszkádfolyamatok beindulását, a gyulladáskeltő anyagok mennyiségének csökkentését, valamint az endogén protektív folyamatok megjelenését.

### **A hipofízis adenilát cikláz-aktiváló polipeptid (PACAP)**

A hipofízis adenilát cikláz-aktiváló polipeptidet (PACAP) először birka hipotalamuszban azonosították, később a központi idegrendszer egyéb területéről is sikerült kimutatni. Ismert, hogy a központi idegrendszerbe juttatott PACAP neurotrofikus és neuroprotektív hatást fejt ki. Kísérletes állatmodellekben *in vivo* PACAP beadás hatására csökken a globális- és fokális agyi ischaemia mértéke. A PACAP előfordulását leírták a perifériás idegrendszerben és az érzékszervekben, így a szemben is. A retinában PACAP-

immunpozitivitás a horizontális, és az amakrin sejtekre jellemző. Korábbi tanulmányok azt mutatták, hogy *in vitro* körülmények között a PACAP a retinában védelmet nyújt a glutamát okozta toxicitás ellen.

### **Diazoxid (7-chloro-3-methyl-4H-1,2,4-benzothiadiazine-1,1-dioxide; DIAZ)**

A retinában bekövetkező sejthalál egyik fő oka a mitokondriumok funkciózavara. A 7-chloro-3-methyl-4H-1,2,4-benzothiadiazine-1,1-dioxide (diazoxid, DIAZ) egy mitoK<sub>ATP</sub>-csatorna aktiváló vegyület, melynek szív- és agyi ischaemia elleni protektív hatását korábban már kimutatták. Az eddig megjelent közlemények ellenére azonban csak nagyon keveset tudunk a DIAZ lehetséges retinoprotektív szerepéről. Korábbi tanulmányok igazolták, hogy a DIAZ növeli a retinális ganglionsejtek túlélésének esélyét, *in vitro* körülmények között védelmet nyújt a retinális neuronoknak a glutamát indukálta mitokondriális depolarizáció ellen. Bizonyították, hogy a DIAZ *in vitro* képes blokkolni a hypoxia indukálta depolarizáció kialakulását horizontális sejtekben, továbbá, hogy a DIAZ előkezelés eredményesen alkalmazható ischaemia okozta neuronális károsodások esetén. A DIAZ közvetlenül a retinára kifejtett protektív hatásairól *in vivo* modellekben azonban ezidáig nem közöltek adatokat.

### **CÉLKITŰZÉSEK**

Munkánk során célul tűztük ki:

- a különböző PACAP kezelések retinán kifejtett idegsejtvédő hatásának vizsgálatát MSG-indukálta excitotoxikus sérülésekkel szemben.
- a PACAP neuroprotektív hatásának vizsgálatát BCCAO okozta retinális ischaemiás károsodás esetén.
- MSG-okozta retinális degeneráció csökkentésének tanulmányozását intravitreális DIAZ injekció alkalmazásával.
- a DIAZ kezelés protektív hatásának vizsgálatát mesterségesen létrehozott ischaemia okozta sejtpusztulás esetén.

Továbbá szeretnénk volna felmérni:

a PACAP/DIAZ kezelés specifikus hatását a pusztuló, illetve túlélő sejtek pontosabb azonosítása céljából 3x MSG-, illetve BCCAO-okozta retinális degeneráció esetén patkányban. Kísérleteinkhez a következő sejtspecifikus immuncitokémiai markereket alkalmaztuk:

- vezikuláris glutamát transzporter-1 (VGLUT-1),
- vezikuláris GABA transzporter (VGAT),
- $\text{Ca}^{2+}$ -kötő fehérjék (calbindin, calretinin, parvalbumin),
- protein-kináz C $\alpha$ (PKC $\alpha$ ),
- gliális fibrilláris savas protein (GFAP).

## **ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

### **MSG kezelés**

Kísérleteinkben újszülött patkányok (n=75) bőre alá inzulinos-fecskendő segítségével a születés utáni első (PD 1), ötödik (PD 5), illetve kilencedik (PD 9) napon szubkután (s.c.) 100  $\mu\text{l}$  fiziológiás sóoldatban oldott 2 mg/testtömeg gramm MSG-t juttattunk. Kontroll kísérleteinknél (n=25) az állatok a fent említett térfogattal megegyező fiziológiás sóoldatot kaptak. Újszülött Wistar patkányok jobb szemébe az üvegtestbe injektálva az MSG kezelést követően 100 pmol egyszer (PD 1), kétszer (PD 1, 5) vagy (PD 1, 5, 9) háromszor alkalmazott, 5  $\mu\text{l}$  fiziológiás sóoldatban oldott PACAP-ot (n=30) vagy háromszor 2  $\mu\text{l}$  0,01M NaOH-ban és 0,2M foszfát pufferes sóoldatban (PBS) oldott 0,172  $\mu\text{g}$  DIAZ-t (n=20) juttattunk. Az állatok bal szemébe azonos mennyiségben csak vivőanyagot (PBS) adagoltunk, így a bal szem a kezelt preparátum kontrolljaként szolgált. Három hét eltelte után, 21 napos korukban az állatokat túlaltattuk, retinájukat pedig szövettani vizsgálatok céljára eltávolítottuk.

### **BCCAO modell**

A permanens BCCAO-t felnőtt, ivarérett 250 – 300g súlyú Wistar patkányokon végeztük (n=69). Az állatok mindkét oldali arteria carotis communisát isoflurannal való altatás közben, 3-0-ás sebészi fonal segítségével, középvonali bevágást követően, véglegesen lekötöttük. Kontrollként áloperált (sham) állatokat (n=16) használtunk, azaz ezeken az állatokon is végrehajtottuk az altatási és műtéti procedúrát, kivéve az érlekötési folyamatot.

Hamilton fecskendő segítségével intravitreálisan PACAP-ot (100pmol / 5µl fiziológiás sóoldat, n=29) vagy DIAZ-ot (0,43µg 0,01M NaOH és 0,2 M PBS elegyében oldva, n=24) juttattunk a kísérleti állatok jobb szemébe. Az állatok bal szeme vizsgálataink során kontrollként (sham) szolgált. Két hetes túlélési idő letelte után az állatokat túlaltattuk, retinájukat eltávolítottuk és morfológiai, illetve morfometriai analízisnek vetettük alá.

### **Hisztológiai vizsgálatok**

A fent említett kezelések után az állatokat túlaltattuk, szemüket eltávolítottuk, majd 4%-os, 0,1 M PB-ben feloldott paraformaldehidben 24 órán keresztül fixáltuk. A kísérleti preparátumokat Durcupan ACM gyantába ágyztuk, majd a kész szöveti blokkokból 2 µm vastagságú metszeteket készítettünk, melyeket toluidinkék festékkel megfestettük. A különböző rétegek vastagságát a retina azonos régióiból készült metszeten mértük. A mérések legkevesebb 3 állat egyenként 6 retina blokkjából készültek (n =2-5 mérés/retinablokk). Azokat a metszeteket, ahol a GCL vastagsága egy sejtsornál nagyobbak mutatkozott, a kiértékelésnél nem vettük figyelembe. A morfológiai és morfometriai analízishez a következő paramétereket vizsgáltuk: (i) a retina keresztmetszete a külső határmembrántól a belső határmembránig (OLM – ILM), (ii) az ONL, OPL, INL, IPL vastagsága és (iii) a 100 µm retinahosszra eső, GCL rétegben található sejtek száma. A statisztikai elemzéshez ANOVA tesztet használtunk, amit Tukey'B *post hoc* analízis követett.

### **Immuncitokémiai vizsgálatok**

A szemserleg preparátumokat blokkokba ágyztuk, majd azokból kriosztáttal 14-16 µm-es sorozatmetszeteket készítettünk, végül adhézión anyaggal bevont tárgylemezre helyeztük. Kísérleteinkhez a következő mono-, illetve poliklonális antitesteket használtuk: VGLUT-1 (vezikuláris glutamát transzporter); VGAT (vezikuláris GABA transzporter); Ca<sup>2+</sup>-kötő fehérjék: calretinin (CALR), calbindin (CALB), parvalbumin (PARV); protein-kináz Cα (PKCα); gliális fibrilláris savas protein (GFAP). Ezt követően 6x5 perces PBS-sel való mosás következett, majd a metszeteket a megfelelő koncentrációra hígított szekunder antitesttel (anti-rabbit Texas-red, IgG, anti-mouse FITC IgG) reagáltattuk.

## EREDMÉNYEK

### MORFOLÓGIAI ÉS MORFOMETRIAI VIZSGÁLATOK

#### A PACAP hatása MSG- vagy BCCAO-indukálta retinadegenerációs modellekben

Az MSG kezelések látható, kísérletesen jól reprodukálható változásokat idéztek elő a retina morfológiájában. Kontroll állatokban a retina rétegei jól elkülönültek, a sejtek szabályos elrendezést mutattak. Az 1x MSG kezelés nem okozott látható mértékű változást fénymikroszkópos szinten, a rétegek vastagsága a kontroll retinának megfelelő volt. A metszetekből jól kitűnt, hogy a szövetben a degeneratív folyamatok már elindultak, ezt a megduzzadt sejtek és idegrendszeri elemek, szövethézagok, piknotikus sejtmagok jelenléte is igazolja. A sötét szögletes sejtmagjáról felismerhető Müller-féle gliasejteket a glutamát-roncsolt retinában nehezen lehetett felismerni. A háromszori MSG kezelést követően a külső sejtes, illetve a külső rostos rétegben kifejezett elváltozást nem tapasztaltunk, de a belső sejtes réteg és a ganglionsejtek rétege fúzionált. A ganglionsejt rétegben a sejtek száma szignifikáns csökkenést mutatott. A fent említett 3x alkalmazott MSG-vel egyidőben egyszer (PD 1), kétszer (PD 1, 5), vagy háromszor (PD 1, 5, 9) 100 pmol intravitreálisan adott PACAP-pal kezeltük az állatok jobb szemét. Egyszeri PACAP kezelés hatására nem tapasztaltunk számottevő változásokat a 3xMSG-vel kezelt retinához képest. A rétegek vastagsága nem változott, a fúzió okozta torzulás a retina belső rétegeiben nagyrészt megmaradt. Kétszeresen, vagy háromszorosan alkalmazott PACAP adagolás szignifikánsan csökkentette az MSG kezelés indukálta retinális károsodást. A retina mindhárom belső rétege jól elkülönült, az IPL észrevehető maradt, az INL megtartotta 2-4 sejtsorát. A GCL-ben található sejtek száma a kontroll retinához viszonyítva változatlan maradt.

Két hét posztoperatív idő elteltével a BCCAO-n átesett állatok retinájának rétegvastagságai az áloperált állatokéval összehasonlítva jelentős változást mutattak. A kezelt állatok ideghártyájának minden rétegében nyilvánvaló degenerációs elváltozások voltak láthatók. A legfeltűnőbb redukció a plexiform rétegekben történt, aminek következtében az OLM-ILM határmembrán távolsága a kontrollhoz képest jelentősen lecsökkent. A fotoreceptorok rétegének vastagsága szintén csökkent. A csapok és pálcikák külső szegmensei kisebbek lettek, valamint szabályos geometriai elhelyezkedésük rendezetlenné vált. A fotoreceptorok sejttestei között számos sejthézag jelent meg. Ennek következtében az ONL rétegvastagsága jelentősen, ám nem szignifikánsan csökkent a kontroll, áloperált állatok

retinájához képest. Hasonló szövetközi hézagokat, valamint degenerálódott képleteket figyelhettünk meg az INL-ben is. A belső sejtes réteg vastagsága szignifikánsan kisebb volt a kontroll mintához képest. Az IPL-ben számos, körülbelül 1µm átmérőjű denz foltot láthattunk, melyek fénymikroszkópos képen is jól detektálhatóak. A denz foltok egyenletes eloszlása a bipoláris sejtkárosodások degenerálódására utalt. A retina külső rétegeiben is jól kvantifikálható sejtkárosodások történtek. Az OPL vastagsága jelentősen redukálódott, mely néhány helyen az ONL és az INL teljes fúziójához vezetett. A GCL-ben jelentős mértékű sejtd degenerációt tapasztaltunk. A BCCAO-t követő, intraokulárisan alkalmazott PACAP kezelés hatására a retinális rétegek fénymikroszkópos anatómiája a kontrollhoz képest alig változott, és ezt a morfometriai analízis is alátámasztotta. A retina rétegeinek vastagsága majdnem megegyezett az áloperált állatokéval, és szignifikánsan nagyobbak bizonyult a carotis műtéten átesett mintákban mérhető értékekhez viszonyítva. Ez különösen az OPL-ben volt szembetűnő, ami PACAP-kezelt állatokban jól látható volt, míg BCCAO-n átesett állatok retinájában az ONL és INL fúziójának következtében szinte teljesen eltűnt. PACAP kezelés hatására csak a GCL-ben található sejtek száma mutatkozott változatlanul alacsonyabbnak az áloperált állatokhoz képest.

### **A DIAZ hatása MSG- vagy BCCAO-indukálta retinadegenerációs modellekben**

A háromszori MSG kezelésén átesett állatok retináján számos neurodegenerációs jeget mutatató struktúra volt látható, ahogy azt már korábban leírtuk. Az IPL teljesen eltűnt, az INL és a GCL pedig fuzionált. A morfometriai vizsgálatok adatai alapján a retina teljes vastagsága szignifikánsan csökkent, csak a fotoreceptorok rétege tűnt változatlanul. A lokálisan alkalmazott DIAZ kezelés hatására a retina struktúrája a kontrollban látott normál állapothoz hasonlónak bizonyult. A GCL-ben a sejtek számának szignifikáns csökkenése elmaradt. A kezelés hatására az IPL láthatóvá vált, az INL és a GCL elkülönült.

Permanens BCCAO-t követően a retina struktúrája jelentős mértékben degenerálódott. Morfológiai és morfometriai vizsgálatainkból kiderült, hogy a sham-operált retinához képest a retina rétegeinek vastagsága jelentősen redukálódik. Intravitreálisan adott DIAZ ebben a modellben is retinoprotektívnek bizonyult: a szövettani analízis azt mutatta, hogy az ONL-t kivéve a retina valamennyi rétegében szignifikáns változások történtek. Kvantitatív vizsgálataink azt mutatták, hogy DIAZ kezelés hatására a ganglionsejtes rétegben a sejtek száma közelít a normál értékhez.



## IMMUNCITOKÉMIAI VIZSGÁLATOK

A patkány kontroll retinában erőteljes VGLUT-1 jelölést találunk az OPL-ben és az IPL-ben egyaránt. Az OPL-ben elsősorban a fotoreceptor sejtek, míg az IPL-ben a bipoláris sejtek terminálisai jelölődtek. A retina rétegei összehasonlítva a kontroll, vagy sham-operált állatok retinájával mind az MSG, mind a BCCAO kezelés hatására erőteljes degenerációt mutattak. BCCAO kezelésen átesett állatok retinájában az OPL rétegben lokalizálható fotoreceptor terminálisok redukálódtak. Excitotoxikus, vagy ischaemiás károsodást követően, a vitreumba alkalmazott PACAP beadás hatására a VGLUT-1 immunreaktivitás a kontrollnak megfelelőnek bizonyult. A protektív hatást bizonyítja az IPL-ben található bipoláris sejterminálisok, valamint az OPL-ben előforduló fotoreceptor terminálisok megtartása. A DIAZ kezelés következtében a kontroll/sham állapottal szinte teljesen megegyező VGLUT-1 immunreaktivitást tapasztaltunk mind az OPL, mind az IPL területén.

Kontroll/sham állatok retinájában VGAT-ot expresszáló retinális képletek főként az OPL-ben és az IPL-ben azonosíthatóak. Az IPL-ben erősebb, míg az OPL-ben gyengébb VGAT immunexpresszivitás tapasztalható. Glutamát-okozta excitotoxikus állapotban a VGAT immunreaktivitás jelentősen redukálódott. PACAP vagy DIAZ kezelés hatására az említett rétegekben továbbra is jelentős VGAT immunreaktivitás volt látható. BCCAO okozta ischaemiás állapotban a retina sejtjeinek VGAT immunexpresszivitása az áloperált retinához képest csökkent, és ez PACAP/DIAZ kezeléssel jelentősen növelhető volt.

A  $\text{Ca}^{2+}$ -kötő fehérjék kontroll/sham retinában a következő sejt-specifikus jelölődést mutatták: az AII amakrin sejtek parvalbumin, a horizontális sejtek calbindin, míg a ganglionsejtek és néhány amakrin sejt calretinin immunopozitív. MSG kezelés hatására a következő változások voltak megfigyelhetőek: PARV esetén a jelölt sejtek száma csökkent; CALB esetén az immunreaktivitás intenzitásában kismértékű változást tapasztaltunk; CALR esetében az immunreaktivitás erőssége, valamint a jelölt sejtek száma egyaránt csökkent. Intravitreálisan alkalmazott PACAP/DIAZ hatására a  $\text{Ca}^{2+}$ -kötő fehérjéket tartalmazó sejtek túlélési aránya jelentős mértékben megnőtt. A másik kísérleti modellünkben (BCCAO) CALB-immunopozitivitás nem volt látható. A PARV- és CALR-immunexpresszivitás az MSG kezelésen átesett retinával megegyezőnek bizonyult. PACAP/DIAZ adagolás következtében a  $\text{Ca}^{2+}$ -kötő fehérjét tartalmazó sejtek immunopozitivitása az áloperált állatok retinájához hasonlóan mutatkozott.

Kontroll/sham retinában PKC $\alpha$  aktivitást lehet megfigyelni mind a pálcska bipolárisok sejttesteiben, mind nyúlványrendszereikben egyaránt. A fent említett sejtek

dendritrendszerének OPL területén való elhelyezkedése az, sejttesteik axonjainak vertikális lefutása, illetve a sejtek terminálisainak IPL-ben való jelenléte alapján jellemezhetőek. Toxikus károsodások esetén a PKC $\alpha$ -immunreaktivitás csökkent, a pálcika bipolárisok nyúlványai valószínűleg megrövidültek, de PKC-expressziójuk megmaradt. PACAP vagy DIAZ kezelt állatokon a szövetroncsolódás progressziójának lassulását, illetve a degeneráció mértékének jelentős csökkenését tapasztaltuk. Az INL a kontroll/sham retinához hasonlóan bizonyult, a retina belső rétegeinek vastagsága az eredeti retinához képest alig változott.

A retinában normál körülmények között végtalpaik kivételével a Müller-féle gliasejtekben gyenge GFAP-specifikus immunpozitivitás tapasztalható. Különböző traumatikus események (MSG, BCCAO) után a GFAP szintjének masszív emelkedése figyelhető meg, melynek következményeként a Müller-sejtek erős immunpozitivitást mutattak a retina teljes területén. Háromszoros PACAP injekció hatására a retina rétegei elkülönültek, ellentétben a GFAP jelerősséggel, ami nem csökkent. Ezzel ellentétben, ha DIAZ kezeléssel ellensúlyoztuk a toxikációs hatásokat, akkor a gliasejtek GFAP szintje jelentősen csökkenthető volt.

## **EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE**

A vizuális információ feldolgozásának vertikális útvonalát kialakító retinális sejtekben a gerinces állatok egyik legfontosabb ingerületátvivő anyaga a glutaminsav. A belső retina sejtjei az ON bipoláris sejtek kivételével mind rendelkeznek ionotróp glutamát receptorokkal, így valamennyi ilyen receptorral rendelkező sejt célpontja lehet az MSG-okozta toxicitásnak. Ismeretes, hogy ugyanezen sejtcsoportok PACAP receptorokat is expresszálnak. Ez a tény és a sejtekben magas koncentrációban előforduló PACAP magyarázatul szolgál arra, hogy ezeken a sejteken az excitotoxikus behatással szemben jelentős védő hatás érvényesül. Eredményeink azt mutatták, hogy MSG és PACAP kombinált adását követően az IPL vastagsága kevésbé csökkent. Továbbá azt tapasztaltuk, hogy kétszeresen alkalmazott PACAP intravitrealis adása elegendő dózist jelent a neuroprotekciónak kialakulásához. Mindezek alapján lehetséges, hogy az ismételt PACAP beadások hosszan tartó neuroprotektív hatással bírnak a patkány retinában.

Munkánk során kimutattuk, hogy a PACAP kezelés hatásosan csökkenti a BCCAO-indukálta retinadegeneráció mértékét felnőtt patkányokban. A morfológiai eredmények összefüggnek a korábban leírtakkal, miszerint a PACAP receptorok jelenléte szerepet játszik a PACAP protektív hatásában, valamennyi belső retinális rétegben. Az irodalomból számos

antiapoptotikus ágens (pl.: kaszpáz-gátlók) ismeretes. Előzetes eredmények a PACAP nagyfokú antiapoptotikus hatásáról számolnak be, mind sejt kultúrákban *in vitro*, mind az agyszövetben *in vivo*, cerebrális ischaemia után. Kutatócsoportunk vizsgálatai rávilágítottak arra, hogy a PACAP gátolja a proapoptotikus jelátviteli útvonalat, valamint antiapoptotikus szignálmolekulákat stimulál glutamát-indukálta retinális sérülésekben, *in vivo* körülmények között. Az oxidatív stressz szintén kitüntetett szerepet játszik ischaemia indukálta retinadegenerációban. A PACAP képes az oxidatív stressz indukálta apoptotikus folyamatok lassítására idegi, valamint nem idegi eredetű sejtekben egyaránt. Ismeretes, hogy a retinában a mitokondriumok kulcsfontosságú szerepet játszanak a neuronális sejthalálban. Előzetes eredményeink szerint, az intravitreálisan alkalmazott PACAP képes gátolni a citokróm-c és az apoptózist indukáló faktor (AIF) mitokondriumból való ürülését, valamint megszüntetni a glutamát-okozta excitáció miatt bekövetkező phospho-bad csökkenést. Mindezek egybevágnak azokkal a megfigyelésekkel, miszerint a PACAP védelmet jelent a mitokondriumból felszabaduló apoptotikus vegyületek káros hatásával szemben.

A mitokondriális jelátviteli út változtatásának másik módja, ha módosítjuk a mitokondriális membrán ionpermeabilitását. ATP-függő  $K^+$ -csatornák a sejtek különböző részein lokalizálhatók, beleértve a mitokondrium belső membránrendszerét. A mitokondriális  $K^+$ -függő ATP-csatornák (mitoK<sub>ATP</sub>-csatorna) alaposan tanulmányozott struktúrák a szívben és az agyszövetben, mivel ezeknek a csatornáknak farmakológiai vagy fizikai stimulusokkal való szelektív aktivációja ischaemiával vagy kémiai stresszel szemben protektív hatású. A neuroprotekción ezen típusa egy olyan új mechanizmust reprezentál, mely nem függ össze a glutamát receptorok blokkolásával. A DIAZ egy mitoK<sub>ATP</sub>-csatorna aktiváló hatású farmakon, amelyet, mint antihipertenzív és antihipoglikémiás drogot, széles körben alkalmaznak neuroprotekción céljából a humán terápiában, valamint alkalmazott neuroprotektív ágens különböző állatkísérletekben. Előzetesen igazolták, hogy ha az inzultus előtt alkalmazunk DIAZ-ot *in vitro*, akkor képes megvédeni a sejteket az oxidatív stressz, vagy a glutamát-okozta toxicitástól. Korábbi tanulmányok a DIAZ *in vivo* neuroprotektív hatásairól is beszámoltak cerebrális ischaemiás állatmodellekben. Tanulmányok igazolták a DIAZ protektív hatását - preischaemiás és posztischaemiás kezeléssel – a korábban említett hipoperfúziós modellekben. A szakirodalomban jelentős ellentmondást találunk a DIAZ lehetséges neuroprotektív hatásának magyarázatára. Az eddig megjelent számos közlemény ellenére a DIAZ retinára kifejtett neuroprotektív és neurotrofikus hatásáról csak nagyon kevés ismeret áll rendelkezésünkre. MitoK<sub>ATP</sub>-csatornákat találunk számos helyen a retina területén. Ezen csatornák nyitása különböző ágensek segítségével, beleértve a DIAZ-ot is, növeli a

retinális ganglionsejtek túlélésének esélyét glutamát indukálta sejthalállal szemben in vitro. Kimutatták továbbá, hogy a DIAZ képes ellensúlyozni a glutamát indukálta mitokondriális depolarizációt. Eredményeink azt mutatták, hogy a DIAZ képes csökkenteni a glutamát, valamint a BCCAO indukálta neuronális sejtpusztulás mértékét. DIAZ alkalmazásával ischaemia/hypoxia, illetve egyéb depolarizációt kiváltó folyamatokban a neuronális protekció a mitokondriális  $\text{Ca}^{2+}$ -szintet csökkentő mechanizmusokon keresztül valósul meg. Eredményeinkből jól látható, hogy az általunk használt két neurodegenerációs modell eltérő patológiai elváltozásokat okoz a retinában, ennek ellenére a DIAZ mind a két modellben (MSG, BCCAO) jelentős neuroprotektív hatással bír.

Morfológiai, morfometriai és immuncitokémiai analízissel megállapítottuk, hogy a mesterségesen indukált retinadegeneráció mellett intravitreálisan alkalmazott PACAP és DIAZ jelentős védőhatással bír az általunk használt különböző retinadegenerációs modellekben. Mindezen kutatások alapján a PACAP és a DIAZ hosszú távon hozzájárulhat a különböző retinális elváltozásokkal járó kórképek hatékonyabb kezeléséhez.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek **Dr. Gábel Róbert professzornak és Dr. Reglődi Dóra egyetemi docensnek**, hogy mindenre kiterjedő önzetlen segítségükkel támogatták tudományos tevékenységemet.

Dr. Csoknya Mária professzorasszonynak, az oktatásban nyújtott segítő útmutatásaiért, áldozatkészségeért, aki fáradságot nem kímélve lektorálta dolgozataimat. Ezúton szeretném megköszönni Dr. Hernádi Istvánnak az elektrofiziológiai kísérletekben nyújtott segítséget.

Továbbá külön köszönöm kutatócsoportunk tagjainak Dr. Babai Norbert, Szabadfi Krisztina, Dr. Kiss Péter, Dr. Rácz Boglárka, Dr. Tamás Andrea és Kőszegi Zsombor szakmai segítőkészségét, kedvességét, támogatását. Köszönöm Jászó Ildikó és Molnár Dóra asszisztensek technikai segítségét.

Végül, de nem utolsó sorban ezúton mondok köszönetet családom minden tagjának, akik szeretete, segítése, támogatása és megértése nélkül ez a munka nem születhetett volna meg.

## PUBLIKÁCIÓK

### Disszertáció alapjául szolgáló tudományos közlemények

1. **Atlasz, T.**, Szabadfi, K., Kiss, P., Babai, N., Kőszegi, Zs., Tamás, A., Reglődi, D., Gábrriel, R. (2008) PACAP-mediated neuroprotection of neurochemically identified cell types in MSG-induced retinal degeneration. *J. Mol. Neurosci.*, közlésre elfogadva (2007. IF: 1.735)
2. **Atlasz, T.**, Babai, N., Reglődi, D., Kiss, P., Tamás, A., Bari, F., Domoki, F., Gábrriel, R. (2007) Diazoxide is protective in the rat retina against ischemic injury induced by bilateral carotid occlusion and glutamate-induced degeneration. *Neurotox. Res.*, 12:105-111. (2007. IF: 5.234)
3. **Atlasz, T.**, Babai, N., Reglődi, D., Kiss, P., Tamás, A., Szabadfi, K., Tóth, G., Hegyi, O., Gábrriel, R. (2007) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide is protective in bilateral carotid occlusion-induced retinal lesion in rats. *Gen. Comp. Endocrin.*, 153:108-114. (2007. IF: 2.562)
4. Babai, N., **Atlasz, T.**, Tamás, A., Reglődi, D., Tóth, G., Kiss, P., Gábrriel, R. (2006) Search for the optimal monosodium glutamate treatment schedule to study the neuroprotective effects of PACAP in the retina. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1070:149-155. (2006. IF: 1.93)
5. Rácz, B., Reglődi, D., Kiss, P., Babai, N., **Atlasz, T.**, Gábrriel, R., Lubics, A., Gallyas, F.Jr., Gasz, B., Tóth, G., Hegyi, O., Tamás, A. (2006) *In vivo* neuroprotection by PACAP in excitotoxic retinal injury: review of effects on retinal morphology and apoptotic signal transduction. *Int. J. Neuroprot. Neurodeg.*, 2:80-85.
6. Babai, N., **Atlasz, T.**, Tamás, A., Reglődi, D., Tóth, G., Kiss, P., Gábrriel, R. (2005) Degree of damage compensation by various PACAP treatments in monosodium glutamate-induced retinal degeneration. *Neurotox. Res.*, 8:227-233. (2005. IF: 1.664)

### Disszertáció alapjául szolgáló konferencia előadások és poszterek

1. **Atlasz, T.**, Szabadfi, K., Reglődi, D., Kiss, P., Tamás, A., Molnár, A., Gábrriel, R. (2008) A PACAP és a DIAZOXID neuroprotektív hatása különböző mesterségesen indukált retinadegenerációs modelleken patkányban. 14. Magyar Látás Szimpózium, Pécs, Hungary, előadás
2. **Atlasz, T.**, Szabadfi, K., Kiss, P., Reglődi, D., Gaál, V., Tamás, A., Molnár, A., Lubics, A., Szabó, K., Gábrriel, R. (2008) The neuroprotective effects of PACAP in several models of neurodegeneration in the rat retina. 4<sup>th</sup> Pannonian symposium (CNS injury), Pécs, Hungary, poszter absztrakt

3. **Atlasz, T.,** Babai, N., Kiss, P., Tamás, A., Tóth, G., Reglődi, D., Gábrriel R. (2007) The neuroprotective effects of PACAP in glutamate-induced retinal degeneration: immunocytochemical investigations. *8th Symposium on VIP, PACAP, and Related Peptides, Manchester and Burlington, Vermont, USA*, poszter absztrakt
4. Gaál, V., **Atlasz, T.,** Babai, N., Tamás, A., Kiss, P., Szalai, M., Gábrriel, R., Koppán, M., Reglődi, D. (2007) Morphology of the retina in toxic and hypoxic/ischemic retinal degeneration and possible protection by the neuropeptide PACAP in the neonatal rat. *Joint Congress of SOE/AAO, Vienna, Austria*, poszter absztrakt
5. Babai, N., **Atlasz, T.,** Kiss, P., Gábrriel, R., Bari, F., Domoki, F., Reglődi, D. (2007) Comparison of diazoxide and PACAP as neuroprotective compounds on different retina degeneration models: histological and immunocytochemical investigations *III. Neurotoxicity Society Meeting, Pucon, Chile*, poszter absztrakt
6. Reglődi, D., Kiss, P., Farkas, J., Szalai, M., Lubics, A., Tamás, A., Lengvári, I., Szőgyi, D., **Atlasz, T.,** Babai, N., Gábrriel, R., Koppán, M. (2007) Effects of hypoxic injuries on neurobehavioral development in newborn rats. *Hung. Neurosci. Assoc. Conf. (MITT) XI., Szeged, Hungary*, oral presentation
7. Babai, N., **Atlasz, T.,** Kiss, P., Gábrriel, R., Bari, F., Domoki, F., Fekete, É., Zorilla, E.P., Reglődi, D. (2007) Különböző neuroprotektív anyagok hatásai retina degenerációs modellekben. *Hung. Neurosci. Assoc. Conf. (MITT) XI., Szeged, Hungary*, poszter absztrakt
8. Kiss, P., **Atlasz, T.,** Babai, N., Tamás, A., Schäffer, D., Lubics, A., Reglődi, D., Tóth, G., Hegyi, O., Gábrriel, R. (2006) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) protects rat retina against hypoxic/ischemic injury. *23<sup>rd</sup> Conf. Europ. Comp. Endocrinologists (CECE), Manchester, UK*, poszter absztrakt
9. **Atlasz, T.,** Babai, N., Kiss, P., Tamás, A., Reglődi, D., Domoki, F., Bari, F., Gábrriel, R. (2006) The neuroprotective effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) and diazoxide on the retina: histological investigations. *5<sup>th</sup> Forum Europ. Neurosci. (FENS), Vienna, Austria, A111.2*, poszter absztrakt
10. Babai, N., **Atlasz, T.,** Schäffer, D., Reglődi, D., Tamás, A., Kiss, P., Szalai, M., Gábrriel, R. (2006) Evaluation of different neurodegeneration models in the rodent retina. *5<sup>th</sup> Forum Europ. Neurosci. (FENS), Vienna, Austria, A111.3*, poszter absztrakt
11. **Atlasz, T.,** Kőszegi, Zs., Babai, N., Kovács, P., Tamás, A., Reglődi, D. (2006) The effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) on the glutamatergic system: electrophysiological and histological investigations. *Int. Brain Res. Org. (IBRO) Workshop, Budapest, Hungary, Vol. 59(S1)1-72*, poszter absztrakt
12. Babai, N., **Atlasz, T.,** Schäffer, D., Reglődi, D., Tamás, A., Kiss, P., Szalai, M., Gábrriel, R. (2006) Comparison of three different neurodegeneration models in the rat retina: monosodium-glutamate (MSG), hypoxic insult combined with unilateral carotis occlusion and bilateral carotis occlusion. *Int. Brain Res. Org. (IBRO) Workshop, Budapest, Hungary, Vol. 59(S1)1-72*, poszter absztrakt



13. Babai, N., **Atlasz, T.**, Tamás, A., Reglődi, D., Gábrriel, R. (2005) Degree of damage compensation by various PACAP treatment regimes in monosodium glutamate-induced retinal degeneration. *VII<sup>th</sup> International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, Rouen, France*, poszter absztrakt
14. Kőszegi, Zs., Kovács, P., **Atlasz, T.**, Reglődi, D., Tamás, A., Tóth, G., Hernádi, I., Gábrriel, R. (2005) In vivo iontophoretically applied PACAP blocks the excitatory effects of kainic acid. *VII<sup>th</sup> International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, Rouen, France*, poszter absztrakt

#### Egyéb tudományos közlemények

1. **Atlasz, T.**, Szabadfi, K., Reglődi, D., Kiss, P., Tamás, A., Tóth, G., Molnár, A., Szabó, K., Gábrriel, R. (2008) Effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP1-38) and its fragments on retinal degeneration induced by neonatal MSG treatment. *Ann. NY. Acad. Sci.*, közlésre elfogadva (2007. IF: 1.731)
2. **Atlasz, T.**, Kőszegi, Zs., Babai, N., Tamás, A., Reglődi, D., Kovács, P., Hernádi, I., Gábrriel, R. (2006) Microiontophoretically applied PACAP blocks excitatory effects of kainic acid *in vivo*. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1070:143-148. (2006. IF: 1.93)
3. **Atlasz, T.**, Kellényi, L., Kovács, P., Babai, N., Thuróczy, G., Hejmel, L., Hernádi, I. (2006) The application of surface plethysmography for heart rate variability analysis after GSM radiofrequency exposure. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 69:233-236. (2006. IF: 1.403)
4. Kőszegi, Zs., Kovács, P., Wilhelm, M., **Atlasz, T.**, Babai, N., Kállai, V., Hernádi, I. (2006) Microiontophoretic investigation of the effects of mast cells on neurons in the rat brain *in vivo*. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 69:227-231 (2006. IF: 1.403)

#### Egyéb konferencia előadások és poszterek

1. Szabadfi, K., **Atlasz, T.**, Reglődi, D., Kiss, P., Dányádi, B., Szabó, K., Molnár, A., Tamás, A., Fekete, É., Zorrilla, EP., Gábrriel, R. The neuroprotective effects of urocortin in bilateral common carotid artery occlusion induced retinal degeneration. *24<sup>th</sup> Conf. Europ. Comp. Endocrinologists (CECE), Genova, Italy*, P86, poszter absztrakt
2. Gaál, V., **Atlasz, T.**, Reglődi, D., Szabadfi, K., Hamza, L., Ságvári, O., Kiss, P., Márton, Zs., Tamás, A., Lubics, A., Gábrriel, R. A hypophysis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) protektív hatása UV-besugárzás indukálta retinális degenerációban. *A Magyar Szemorvostársaság 2008. évi Kongresszusa, Pécs, Hungary*, poszter absztrakt

3. **Atlasz, T.**, Szabadfi, K., Reglődi, D., Kiss, P., Tamás, A., Tóth, G., Molnár, A., Gábrriel, R. (2008) The neuroprotective effects of PACAP-fragments in MSG-induced neurodegeneration in rat retina. *MÉT LXXII., Debrecen, Hungary*, P8, poszter absztrakt
4. Szabadfi, K., **Atlasz, T.**, Reglődi, D., Kiss P., Tamás, A., Dányádi, B., Fekete, É.M., Zorrilla, E. P., Szabó, K., Gábrriel, R. (2008) The neuroprotective effects of urocortin in bilateral common carotid artery occlusion induced retinal degeneration: histological and immunocytochemical preparations. *MÉT LXXII., Debrecen, Hungary*, P16, poszter absztrakt
5. Kiss, P., Horváth, G., Farkas, J., Szőgyi, D., Szabadfi, K., **Atlasz, T.**, Tamás, A., Falko, F., Németh, J., Lubics, A., Gábrriel, R., Reglődi, D. (2008) Ingergazdag környezet hatása az újszülött patkányok idegrendszeri fejlődésére. *MÉT LXXII., Debrecen, Hungary*, P68, poszter absztrakt
6. Farkas, J., Kiss, P., Horváth, G., Szőgyi, D., Falko, F., Németh, J., Gaszner, B., Szabadfi, K., **Atlasz, T.**, Tamás, A., Gábrriel, R., Reglődi, D. (2008) Maternális depriváció hatása az újszülött patkányok idegrendszeri fejlődésére. *MÉT LXXII., Debrecen, Hungary*, P37, poszter absztrakt
7. Szabadfi, K., Reglődi, D., Kiss, P., Tamás, A., Babai, N., Hamza, L., Gábrriel, R., Fekete, É.M., Zorrilla, E.P., **Atlasz, T.** (2008) The neuroprotective effects of urocortin in bilateral common carotid artery occlusion induced retinal degeneration. *IBRO International Workshop, Debrecen, Hungary*, P138, poszter absztrakt
8. Kőszegi, Zs., **Atlasz, T.**, Csupor, D., Hohmann, J., Hernádi, I.: Az Aconitum alkaloid szongorin GABA-A receptoron kifejtett hatása. *A MGYT Gyógynövény Szakosztályának rendezvénye, Szeged, Hungary*, előadás
9. Szabadfi, K., **Atlasz, T.**, Kőszegi, Zs., Csupor, D., Kovács, P., Hohmann, J., Hernádi, I. (2007) Fiziológiai hatású Aconitum-alkaloidok *in vivo* vizsgálata patkány központi idegrendszerében. *A MGYT Gyógynövény Szakosztályának rendezvénye, Szeged, Hungary*, poszter absztrakt
10. Kőszegi, Zs., **Atlasz, T.**, Csupor, D., Hohmann, J., Hernádi I. (2007) Aconitum alkaloid songorine acts as a potent gabaa receptor agonist in the rat brain *in vivo*. *Polish Neuroscience Society 8<sup>th</sup> International Congress, Krakow, Poland*, P9.05, poszter absztrakt
11. Kőszegi, Zs., **Atlasz, T.**, Csupor, D., Szabadfi, K., Hohmann, J., Hernádi I. (2007) Aconitum alkaloid songorine GABAA receptorokon kifejtett hatása patkányban, *in vivo*. *MÉT LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, Hungary*, P68, poszter absztrakt
12. Németh, Á., Ajtay, Z., **Atlasz, T.**, Hejjel, L., Hernádi, I., Thuróczy, Gy., Kellényi, L. (2007) Szívfrekvencia-variabilitás (HRV) elemzése GSM mobiltelefon rádiófrekvenciás (RF) sugárzásának hatására fiatal felnőttekben és idősebb szívűműtötteknél. *MÉT LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, Hungary*, P70, poszter absztrakt



13. Kőszegi, Zs., Kállai, V., **Atlasz, T.**, Babai, N., Kovács, P., Vecsei, Zs., Wilhelm, M., Hernádi I. (2007) The effects of mast cell degranulation on neuronal activity in the thalamus of normal and ovariectomized rats. *Hung. Neurosci. Assoc. Conf. (MITT) XI., Szeged, Hungary*, P2, poszter absztrakt
14. Szabadfi, K., Kőszegi, Zs., **Atlasz, T.**, Csupor, D., Kovács, P., Hohmann, J., Hernádi, I. (2007) Fiziológiailag aktív aconitum-alkaloidok neuronális hatásának *in vivo* vizsgálata patkány központi idegrendszerében. *Hung. Neurosci. Assoc. Conf. (MITT) XI., Szeged, Hungary*, P7, poszter absztrakt
15. Gomes, J.R., Melo, CV., **Atlasz, T.**, Reglődi D., Gábrriel, R., Duarte, CB. (2006) Calpain cleaves the vesicular GABA transporter (VGAT) into a new stable form, under excitotoxic conditions and in vivo ischaemia. *XV<sup>th</sup> National Congress of Biochemistry, Aveiro, Portugal*, poszter absztrakt
16. Szabadfi, K., **Atlasz, T.**, Csupor, D., Kőszegi, Zs., Kovács, P., Babai, N., Hohmann, J., Hernádi, I. (2006) *In vivo* electrophysiological effects of aconitum alkaloids in the mammalian brain. *MÉT LXX. Vándorgyűlése, Szeged, Hungary*, P15, poszter absztrakt
17. Uzsoki, B., Tóth, M., Vas, G., Kovács, L., **Atlasz, T.**, Hernádi, I. (2006) Novelty-response of rats determines the behavioural effects of the alpha-2A agonist guanfacine. *MÉT LXX. Vándorgyűlése, Szeged, Hungary*, P78, poszter absztrakt
18. Uzsoki, B., Tóth, M., Kovács, L., Vass, G., **Atlasz, T.**, Hernádi, I. (2006) Reverse effects of the alpha-2A adrenoceptor antagonist guanfacine on the anxiety of different novelty-responder rats. *5<sup>th</sup> Forum Europ. Neurosci. (FENS), Vienna, Austria*, A161.24, poszter absztrakt
19. **Atlasz, T.**, Kovács P., Uzsoki B., Babai N., Hernádi, I. (2006) A yohimbin specifikus alfa 2-A/D noradrenerg receptor antagonistaként hat: elektrofiziológiai és magatartási bizonyítékok. *A Magyar Tudomány Ünnepe, Természettudományi PhD kiállítás, Pécs, Hungary*, poszter absztrakt
20. **Atlasz, T.**, Kovács, P., Kellényi, L., Thuróczy, Gy., Ajtay, Z., Hejjel, L., Babai, N., Hernádi I. (2005) The effects of GSM mobile phones on heart rate and heart rate variability in young adults. *8<sup>th</sup> Symposium on Instrumental Analysis, Graz, Austria*, poszter absztrakt
21. Kovács, P., Kőszegi, Zs., **Atlasz, T.**, Hernádi, I., Wilhelm, M. (2005) Mast cells modulate neuronal activity in the thalamus of the rat. *8<sup>th</sup> Symposium on Instrumental Analysis, Graz, Austria*, poszter absztrakt
22. Kovács, P., **Atlasz, T.**, Kőszegi, Zs., Kállai, V., Molnár, D., Hernádi, I., Wilhelm, M. (2005) Changing estrogen level modifies mast cell-neuron interactions in the rat thalamus. *Hung. Neurosci. Assoc. Conf. (MITT) X., Pécs, Hungary, Clin.Neurosci./Idegy. Szle., Vol 58, suppl 1, p1-112*, poszter absztrakt

23. Kellényi, L., Kovács, P., **Atlasz, T.**, Thuróczy, Gy., Ajtay, Z., Hejjel, L., Hernádi, I. (2005) The effects of GSM mobile phones on the autonomic regulation of the heart in young adults. *Hung. Neurosci. Assoc. Conf. (MITT) X., Pécs, Hungary, Clin.Neurosci./Ideggy. Szle.*, Vol 58, suppl 1, p1-112, poszter absztrakt
24. Kovács, P., Atlasz, T., Hernádi, I. (2004) The action of alpha-2 adrenergic agents on the firing properties of prefrontal cortical neurons in the rat *in vivo*: a combined electrochemical and electrophysiological study. *4<sup>th</sup> Forum Europ. Neurosci. (FENS), Lisbon, Portugal*, Abstr., Vol 2, A011.1, poszter absztrakt
25. Uzsoki, B., Kovács, P., **Atlasz, T.**, Hernádi, I. (2003) Does yohimbine act as a subtype specific presynaptic alpha-2A(D) adrenoceptor antagonist? *In vivo* electrophysiological and behavioural studies in rats. *Europ. Behav. Pharmacol Soc. (EBPS) X. meeting, Antwerp, Belgium*, Vol 14, suppl 1, p33, poszter absztrakt
26. **Atlasz, T.**, Babai, N., Uzsoki, B., Kovács, P., Hernádi, I. (2003) A yohimbin specifikus preszinaptikus alfa-2A/D noradrenerg receptor antagonistaként hat: elektrofiziológiai és magatartási bizonyítékok. *MITT IX., Balatonfüred, Hungary, Clin. Neurosci./Ideggy. Szle.*, Vol 56, suppl 2, poszter absztrakt

Összes publikáció kumulatív impakt faktora: 34.386

Összes publikációk impakt faktora: 19.592

Témához kapcsolódó publikációk impakt faktora: 13.125

Összes idézettség: 23

Összes idegen idézettség: 7